Journal of Horticultural Science
Vol. 34, No.2, Summer 2020, P. 221-230
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۴، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹، ص. ۲۳۰-۲۲۱
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

مقاله علمی-پژوهشی

تأثیر تیمار گاما آمینوبوتیریک اسید (GABA) بر سرمازدگی پس از برداشت میوه گوجه‌فرنگی

محسن مرادی[1]- فرهنگ رضوی[2]*- ولی ربیعی[3]- مرتضی سلیمانی اقدم[4]- لیلا صالحی[5]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۱۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۶/۲۳

چکیده

در این پژوهش تاثیر تیمار پس از برداشت گاما آمینو بوتیریک اسید (GABA) (صفر، ۰/۱، ۱ و ۵ میلی‌مولار به صورت غوطه‌وری به مدت ۱۰ دقیقه) بر سرمازدگی میوه گوجه‌فرنگی در طول نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۸ روز مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که میزان سرمازدگی در میوه‌های گوجه‌فرنگی در پاسخ به تیمار GABA در طول نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۸ روز نسبت به شاهد کمتر می‌باشد که با کاهش نشت یونی و تجمع مالون دی‌آلدئید (MDA) همراه می‌باشد. علاوه بر این، میوه‌های گوجه‌فرنگی در پاسخ به تیمار GABA در طول نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۸ روز دارای فعالیت بالای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از قبیل کاتالاز (CAT)، پراکسیداز (POX) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) می‌باشند که منجر به تجمع بالای اسید آسکوربیک می‌گردد. علاوه بر این، تجمع بالای فنل و فلاونوئید کل در میوه‌های گوجه‌فرنگی در پاسخ به تیمار GABA می‌تواند در اثر فعالیت بالای آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) در طول نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۸ روز باشد. نتایج حاصله نشان می‌دهد که تیمار GABA، سرمازدگی پس از برداشت میوه گوجه‌فرنگی را در طول نگهداری از طریق افزایش فعالیت مسیر فنیل پروپانوئید و تحریک فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی کاهش می‌دهد که در حفظ انسجام غشای سلولی موثر می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: انسجام غشایی، سرمازدگی، سیستم آنتی اکسیدانی، ظرفیت جاروب کنندگی رادیکال DPPH، گوجه فرنگی

مقدمه

یکی از مشکلات اصلی محصولات گرمسیری و نیمه گرمسیری در دوره پس از برداشت حساسیت آنها به دمای پایین می‌باشد که منجر به ایجاد آسیب سرمازدگی می‌شود. آسیب سرمازدگی انبارمانی این محصولات را محدود کرده و منجر به کاهش معنی‌داری در کیفیت محصول می‌گردد. میوه گوجه‌فرنگی حساسیت بالایی به سرمازدگی داشته و نگهداری آن در دمای زیر ۱۲ درجه سانتی‌گراد موجب سرمازدگی می‌شود (۴۰). خسارت سرمازدگی با رنگ گیری آهسته و غیر طبیعی، افزایش حساسیت به بیماری‌ها، کاهش وزن و فرورفتگی سطحی مشخص می‌شود. این علائم زمانی ظاهر می‌شوند که میوه به دمای بالا منتقل می‌شود (۲۶). گوجه‌فرنگی به عنوان یک میوه فرازگرا می‌تواند در مراحل ابتدای رسیدن فیزیولوژیکی برداشت شود (۵)، سپس در طی انبارمانی یا حمل و نقل به بازارهای مورد نظر رسانده شود، این روش باعث افزایش عمر انبارمانی و کاهش ضایعات شده، همچنین می‌تواند زمان عرضه به بازار را کنترل کند (۳۶). گوجه‌فرنگی طول عمر کوتاهی دارد که معمولا حدود ۲ تا ۳ هفته به طول می‌انجامد. هر اندازه سفتی بافت میوه زیاد باشد باعث افزایش مدت انبارمانی میوه و کاهش ضایعات می‌گردد. اگر تحت شرایط خاصی بتوان از نرم شدن سریع میوه جلوگیری نمود و کیفیت میوه را حتی برای مدت کوتاهی حفظ کرد، در این صورت می‌توان از درصد بالای ضایعات این محصول جلوگیری نمود (۱۵).

گاما آمینوبوتیریک اسید (GABA) یک اسید آمینه غیر پروتئینی چهار کربنه است که در موجودات پروکاریوت و یوکاریوت یافت می شود، اگرچه نقش آن در گیاهان به طور کامل شناخته نشده است اما به نظر می‌رسد در انتقال سیگنال دفاعی دخالت دارد (۲۸). مشخص شده است که GABA اغلب در گیاهان در پاسخ به تنش‌های زنده و غیرزنده از جمله خشکی، شوری، کمبود اکسیژن، زخم و آلودگی عوامل بیماری‌زا سریعا تجمع می‌یابد (۶). GABA به عنوان مولکول سیگنالی نقش‌های مهمی در رشد و نمو گیاه، تنظیم pH، تنظیم

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، استادیار و دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: razavi.farhang@znu.ac.ir)
۴- استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی، قزوین، ایران
۵- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

DOI: 10.22067/jhorts4.v34i2.78718

اسمزی جلوگیری از تجمع گونه‌های فعال اکسیژن، دفاع در برابر تنش‌های زنده و غیرزنده ایفا می‌کند (۲۴). کاربرد خارجی گاما آمینوبوتیریک اسید باعث افزایش مقاومت پس از برداشت میوه‌های موز (۳۵)، و هلو در برابر سرمازدگی می‌شود (۲۷). گزارش شده است که در طی تنش سرما متابولیسم GABA در بافت میوه افزایش می یابد. بنابراین استفاده از GABA به عنوان تیمار پس از برداشت می‌تواند یک رویکرد ایمن از نظر سلامت غذایی و دارویی برای افزایش نگهداری و ارتقا ارزش تغذیه‌ای در محصولات باغبانی مورد استفاده قرار گیرد (۲۸). لذا هدف از انجام این آزمایش بررسی اثر تیمار پس از برداشت GABA بر سرمازدگی و خواص بیوشیمایی گوجه‌فرنگی رقم ازمیر بود.

مواد و روش‌ها

تهیه میوه‌ها و تیمار با GABA: جهت اجرای آزمایش، میوه‌های گوجه‌فرنگی رقم ازمیر (*Solanum lycopersicum* cv. Izmir) در مرحله سبز بالغ از گلخانه تجاری واقع در زنجان برداشت شد، سپس به آزمایشگاه فیزیولوژی پس از برداشت دانشگاه زنجان منتقل شدند. تیمارهای آزمایش شامل گاما آمینوبوتیریک اسید در سه سطح (۰/۱، ۱ و ۵ میلی‌مولار) به همراه شاهد (آب مقطر) بود. میوه‌های گوجه‌فرنگی تیمار شده در قالب ۴۸ واحد آزمایشی و شامل ۴ میوه در هر واحد آزمایشی بود. پس از اعمال تیمارها، میوه‌ها به مدت ۶۰ دقیقه در دمای اتاق خشک شدند. سپس به سردخانه با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۰–۸۵ درصد منتقل شدند. از نمونه‌های موجود در هر تیمار به فاصله هر ۷ روز یک بار در دوره ۲۸ روزه از سردخانه نمونه‌بردای و مورد ارزیابی قرار گرفتند.

آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل تیمارهای (گاما آمینوبوتیریک اسید و شاهد) و زمان انبارمانی (۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ روز) بود. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS20 آنالیز و مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

شاخص‌ها و صفات اندازه‌گیری شده

شاخص سرمازدگی: برای اندازه‌گیری شاخص سرمازدگی در هر زمان نمونه‌برداری ۳ میوه به صورت تصادفی از هر تیمار و تکرار انتخاب گردید و به دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ روز منتقل گردیدند تا جهت اندازه‌گیری شاخص سرمازدگی میوه بر اساس میزان فرورفتگی سطحی میوه که مهمترین علامت سرمازدگی در میوه گوجه فرنگی می‌باشد (۹) مورد استفاده قرار گیرد. شاخص سرمازدگی بر اساس میزان سطحی از میوه که فرورفتگی سطحی را نشان داده مورد بررسی قرار گرفت، اگر در میوه فرورفتگی سطحی مشاهده نشد ۰، در صورت مشاهده فرورفتگی سطحی کمتر از ۲۵ درصد، نمره ۱، فرورفتگی سطحی بین ۲۵ تا ۵۰ درصد نمره ۲، فرورفتگی سطحی بین ۵۰ تا ۷۵ درصد نمره ۳ و بیش از ۷۵ درصد فرورفتگی میوه نمره ۴ داده شد. و با استفاده از فرمول زیر شاخص سرمازدگی ارزیابی گردید.

(۱) شاخص سرمازدگی = Σ[(نمره مربوطه)×سطح
۴ × تعداد کل میوه / [تعداد میوه دارای علامت سرمازدگی

اسید آسکوربیک: میزان اسید آسکوربیک موجود در عصاره میوه به وسیله روش یدومتریک اندازه‌گیری شد و میزان اسید آسکوربیک بر حسب میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن‌تر میوه بیان شد (۱۷).

نشت یونی، میزان پرولین و مالون دی آلدئید: نشت یونی طبق روش توصیف شده توسط زائو و همکاران (۴۰) مورد ارزیابی قرار گرفت. یک گرم بافت میوه را خرد کرده و سپس قطعات میوه، داخل فالکون ۱۵ میلی‌لیتری ریخته شد، ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به فالکون‌ها اضافه شد و میزان هدایت الکتریکی آن‌ها در دو مرحله جداگانه، یکی پس از یک ساعت قرارگیری در بن ماری با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و دیگری پس از ۲۰ دقیقه قرارگیری در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۲ اتمسفر با دستگاه EC متر قرائت شد. میزان پرولین به روش نین هیدرین اندازه‌گیری شد (۴۰) و نتایج به صورت میکروگرم بر گرم وزن تر بیان گردید. مالون دی آلدئید بر اساس روش تیوباربیتوریک اسید توصیف شده توسط زائو و همکاران (۴۰) اندازه‌گیری گردید و بر اساس میکرومول بر گرم وزن تر میوه بیان شد.

آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز: اندازه‌گیری فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز با استفاده از روش بیان شده توسط گالوز و همکاران (۱۳) با ایجاد کمی تغییرات انجام شد. واحد فعالیت آنزیم بر اساس میزان تغییرات جذب در هر میلی‌لیتر از عصاره آنزیم گزارش شد.

فنل کل، فلاونوئید کل و ظرفیت جاروب کنندگی رادیکال DPPH

میزان فنل کل با استفاده از معرف فولین سیوکالتو اندازه‌گیری گردید(۱۵). برای این منظور ۲ میلی‌لیتر Na_2Co_3 و ۰/۱ میلی‌لیتر از واکنش فولین سیوکالتو (۵۰ درصد) مورد استفاده قرار گرفت. همچنین میزان فلاونوئید کل عصاره‌ها با روش ارائه شده توسط کاجو و همکاران (۱۹) اندازه‌گیری شد. برای این منظور، روی ۰/۲۵ میلی‌لیتر از نمونه‌ها با رقت مناسب، ۷۵ میکرولیتر $NaNO_2$ (۵٪ W/V) و ۰/۱۵ میلی‌لیتر AlCl3 (۱۰٪ W/V) و ۰/۵ میلی‌لیتر NaOH یک مولار اضافه شد و با اضافه کردن آب مقطر حجم نهایی به ۲/۵ میلی‌لیتر رسید. سپس جذب محلول پس از ۵ دقیقه در طول موج ۵۰۷ نانومتر با اسپکتروفتومتر قرائت گردید. برای اندازه‌گیری ظرفیت جاروب کنندگی رادیکال DPPH از روش DPPH استفاده شد (۷).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز: برای عصاره‌گیری از نمونه‌های گیاهی جهت استخراج آنزیم‌های مورد بررسی از بافر فسفات سدیم ۰/۱ مولار با pH=۷ حاوی ۰/۲ درصد پلی وینیل پیرولیدین (PVP) استفاده شد و به ازای یک گرم وزن تر میوه ۳ میلی‌لیتر بافر استخراج اضافه شد. پس از همگن شده نمونه‌ها، عصاره رویی جدا و از آن برای سنجش فعالیت آنزیم‌های مورد نظر (کاتالاز و پراکسیداز) استفاده شد (۹).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز: برای عصاره‌گیری از نمونه‌های گیاهی، ۲۵ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی‌لیتر با pH=۶/۶ حاوی یک درصد پلی وینیل پیرولیدین استفاده شد. پس از همگن شدن نمونه‌ها، عصاره رویی جدا و از آن برای سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز استفاده شد (۳۴).

نتایج و بحث

شاخص سرمازدگی و نشت یونی: نتایج این تحقیق نشان داد که گاماآمینوبوتیریک اسید تاثیر معنی‌داری در کاهش شاخص سرمازدگی میوه گوجه‌فرنگی در طول دوره انبارمانی داشت (جدول ۱). همچنین GABA به طور معنی‌داری موجب کاهش نشت یونی در میوه گوجه‌فرنگی شد. وانگ و همکاران (۳۵) تاثیر تیمار GABA بر سرمازدگی پس از برداشت میوه موز را بررسی نمودند و نشان دادند که میوه‌های تیمار شده با GABA به طور معنی‌داری درصد سرمازدگی و نشت یونی را در میوه موز کاهش داده است. به طور کلی اولین خسارت تنش سرما، اختلال در عملکرد غشا و نفوذپذیری انتخابی آن است که موجب نشت یون‌ها به خارج از سلول شده و باعث افزایش رادیکال‌های آزاد بیش از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی می‌شود و بنابراین واکنش رادیکال‌های آزاد با اسیدهای چرب غیر اشباع در غشای سلولی اتفاق می‌افتد و باعث پراکسیده شدن لیپیدهای غشا و در نهایت باعث اختلال در نفوذپذیری انتخابی و نشت یون‌ها به بیرون سلول می‌شود(۲۰).

اسید آسکوربیک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی: نتایج نشان داد که میزان اسید اسکوربیک در زمان برداشت ۴۲/۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر بود که با گذشت زمان آزمایش در تمامی نمونه‌ها کاهش یافت. استفاده از GABA سبب حفظ معنی‌دار اسید آسکوربیک نسبت به شاهد گردید. بیشترین میزان اسید آسکوربیک در تیمار ۵ میلی-مولار مشاهده شد. اسید آسکوربیک جزء مواد آنتی‌اکسیدانی مهم است و در طول دوره انبارمانی کاهش پیدا می‌کند که در تحقیق حاضر نیز این اتفاق افتاد اما اثر تیمار GABA موجب حفظ مقدار اسید آسکوربیک در طول دوره انبارمانی نسبت به شاهد شدند و همچنین با افزایش طول دوره انبارمانی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه های تیمار شده افزایش یافت (جدول ۱). اقدم و همکاران (۳۰) گزارش کردند که تیمار پس از برداشت GABA در میوه هلو باعث حفظ اسید آسکوربیک نسبت به شاهد شد. اسید آسکوربیک در بسیاری از مسیرهای آنتی‌اکسیدانی موثر در حذف رادیکال‌های آزاد نقش دارد و همچنین نقش قابل توجهی در نگهداری میوه‌ها در طول دوره رشد و نموی روی درخت و همچنین پس از برداشت و در طول انبارمانی به عهده دارد (۲۲). همچنین کاهش میزان اسید آسکوربیک را می‌توان به کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌ها طی انبارمانی نسبت داد (۲). ترکیبات آنتی‌اکسیدانی سبب بالا رفتن تحمل به دمای پایین طی انبارمانی میوه می‌شود. آنتی‌اکسیدان‌ها با دادن الکترون به رادیکال‌های آزاد خود اکسیده شده و قدرت اکسیدکنندگی و ایجاد خسارت توسط رادیکال‌های آزاد تولید شده در اثر تنش را از بین می برد (۱۱). کاربرد پس از برداشت GABA در میوه موز باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه شده است (۳۵).

فعالیت آنزیم PAL، میزان فنل کل و فلاونوئید کل: نتایج این آزمایش نشان داد که فعالیت آنزیم PAL در میوه‌های شاهد و تیمار با GABA در طول دوره انبارمانی روند افزایشی داشت اما فعالیت آنزیم PAL در میوه گوجه‌فرنگی تیمار شده با GABA به طور محسوسی بالاتر بود (جدول ۱). همچنین در میوه‌های تیمار شده با گاما آمینوبوتیریک اسید میزان فنل و فلاونوئید کل در طی دوره انبارمانی افزایش یافت (جدول ۱) که می‌تواند با افزایش فعالیت آنزیم PAL در ارتباط باشد. آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز به عنوان آنزیم کلیدی در متابولیسم فنیل پروپانوئید، تبدیل فنیل‌آلانین به ترانس سینامیک اسید را کاتالیز می‌نماید که اولین مرحله در بیوسنتز فنیل پروپانوئیدها بوده که منجر به تولید متابولیت‌های ثانویه مانند فنل‌ها، لیگنین، فیتوالکسین‌ها و فلاونوئیدها می‌گردد (۱۰). افزایش فعالیت آنزیم PAL یکی از مکانیسم‌های کاهش آسیب سرمازدگی در گیاهان می‌باشد. این آنزیم به وسیله تنش‌های زنده و غیرزنده مانند زخم‌های مکانیکی، دمای بالا و پایین، تابش UV و آلودگی‌های قارچی و سایر تنش‌ها تحریک می‌گردد و در نتیجه تجمع موادی مانند اسیدهای فنلی و فلاونوئیدها را در بر دارد (۲۱). یانگ و همکاران (۳۹) گزارش کردند که تیمار GABA باعث افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز در میوه هلو شده است. تیمار GABA در دوره پس از برداشت باعث تحریک فعالیت آنزیم PAL شده و سبب افزایش ترکیبات فنلی گردیده که در نتیجه منجر به افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی در بافت میوه می‌شود. GABA علاوه بر افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، از تولید گونه‌های فعال اکسیژن در شرایط تنش جلوگیری می کند (۳۳).

جدول ۱ – تاثیر گاما آمینوبوتیریک اسید بر صفات ارزیابی شده میوه گوجه‌فرنگی در انبارمانی سرد

Table 1- Effect of γ-Aminobutyric acid on evaluated properties of tomato fruits during cold storage

زمان انبارمانی Storage time (day)	تیمار: گاما آمینوبوتیریک اسید GABA (mM)	صفات Traits: شاخص سرمازدگی Chilling Injury (%)	اسید آسکوربیک Vitamin c (mg/100g FW)	فنل کل Total phenols (mg/100g FW)	فلاونوئید کل Total flavonoids (mg/100g FW)	ظرفیت آنتی‌اکسیدان Antioxidant capacity (%)	پرولین Proline (µg/g FW)	نشت یونی Ion leakage (%)
7	شاهدControl	4.16^{f}	35.34^{bc}	7.32^{ef}	0.68^{cd}	25.37^{e}	216.99^{e-h}	10.53^{hij}
	0.1	0	34.56^{bcd}	6.41^{fg}	0.2^{e}	25.21^{e}	150.19^{h}	9.46^{ji}
	1	0	36.64^{b}	6.13^{fg}	0.44^{de}	25.2^{e}	139.95^{h}	8.4^{i}
	5	0	41.58^{a}	6.63^{efg}	0.71^{cd}	24.77^{e}	288.1^{d-g}	8^{i}
14	شاهدControl	7.29^{e}	29.88^{d-g}	4.35^{gh}	0.6^{cde}	26.06^{e}	195.44^{fgh}	16.83^{g}
	0.1	0	33.52^{b-e}	6.93^{ef}	0.7^{cd}	28.64^{d}	184.67^{gh}	11.93^{hi}
	1	0	36.38^{b}	8.95^{e}	1^{bc}	29.35^{d}	330.12^{d}	12.86^{h}
	5	0	36.9^{b}	13.72^{d}	1.28^{b}	25.47^{e}	384^{cd}	15.76^{g}
21	شاهدControl	26.04^{b}	25.46^{ghi}	3.49^{h}	0.39^{de}	22.2^{f}	221.84^{e-h}	25.96^{d}
	0.1	13.02^{d}	27.54^{fgh}	15.18^{cd}	1.78^{a}	34.23^{bc}	298.34^{def}	19.76^{f}
	1	8.33^{e}	29.36^{efg}	16.39^{c}	1.77^{a}	32.22^{c}	380.76^{cd}	21.63^{ef}
	5	4.16^{f}	31.18^{c-f}	20.78^{b}	2.16^{a}	$33.81b^{c}$	477.19^{bc}	$24.13d^{e}$
28	شاهدControl	48.95^{a}	17.41^{j}	3.01^{h}	0.18^{e}	21.62^{f}	309.65^{de}	37.96^{a}
	0.1	20.83^{c}	22.35^{hi}	24.05^{a}	1.89^{a}	35.74^{b}	469.65^{bc}	30.53^{c}
	1	11.97^{d}	22.86^{i}	24.86^{a}	1.82^{a}	38.36^{a}	507.36^{b}	$32.8b^{c}$
	5	8.33^{e}	24.42^{hi}	25.51^{a}	2.05^{a}	40.26^{a}	616.18^{a}	35.13^{b}

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حرف مشترک هستند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means in each column followed by similar letter had no significant different at the 5% of probability level using Duncan`s multiple range test.

ادامه جدول ۱ - تاثیر گاما آمینوبوتیریک اسید بر صفات ارزیابی شده میوه گوجه‌فرنگی در انبارمانی سرد

Table 1- Effect of γ-Aminobutyric acid on evaluated properties of tomato fruits during cold storage

زمان انبارمانی Storage time (day)	تیمار: گاما آمینوبوتیریک اسید GABA (mM)	صفات Traits: مالون دی آلدئید MDA (µmol/ g FW)	فنیل آلانین آمونیالیاز PAL activity (µmol/g FW)	کاتالاز CAT activity (mg/g FW min)	پراکسیداز POD activity (U g/ FW min)	سوپر اکسید دیسموتاز SOD activity (U g/ FW min)
7	شاهد Control	0.29^{ef}	27.76^{ij}	6.33^{j}	65.43^{i}	99.25^{j}
	0.1	0.31^{def}	30.59^{hij}	6.33^{j}	73.09^{h}	80.8^{k}
	1	0.19^{g}	28.74^{hij}	7.91^{hi}	76.92^{h}	101.68^{j}
	5	0.25^{fg}	25.82^{j}	9.5^{hi}	84.91^{g}	92^{jk}
14	شاهد Control	0.41^{c}	32.58^{ghi}	9.5^{hi}	93.57^{f}	136.33^{i}
	0.1	0.37^{cd}	42.96^{f}	11.08^{ghi}	92.34^{f}	159.99^{h}
	1	0.38^{cd}	36.63^{g}	14.25^{fgh}	98.72^{f}	146.54^{i}
	5	0.33^{de}	33.4^{gh}	22.17^{cde}	116.34^{d}	176.77^{g}
21	شاهد Control	0.56^{ab}	42.14^{f}	19^{def}	119.37^{d}	187.66^{fg}
	0.1	0.45^{c}	61.91^{d}	20.58^{def}	126.39^{c}	194.81^{ef}
	1	0.42^{c}	56.21^{e}	25.34^{bcd}	135.61^{b}	182.76^{fg}
	5	0.42^{c}	51.67^{e}	31.67^{b}	144.25^{a}	212.15^{cd}
28	شاهد Control	0.63^{a}	54.24^{e}	17.42^{efg}	85.11^{g}	201.83^{de}
	0.1	0.57^{ab}	81.12^{a}	$28.5b^{c}$	92.46^{f}	238.5^{b}
	1	0.53^{b}	74.31^{b}	31.67^{b}	95.7^{f}	222.12^{cd}
	5	0.54^{b}	68.27^{c}	41.17^{a}	105.02^{e}	252.81^{a}

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حرف مشترک هستند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means in each column followed by similar letter had no significant different at the 5% of probability level using Duncan`s multiple range test.

مالون‌دی‌آلدئید: نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که مقدار مالون‌دی‌آلدئید نمونه‌ها با گذشت زمان انبارداری افزایش یافت. تیمار گاما آمینوبوتیریک اسید تاثیر معنی‌داری در جلوگیری از افزایش میزان مالون‌دی‌آلدئید میوه گوجه‌فرنگی در طول دوره انبارمانی داشت و کمترین میزان مالون‌دی‌آلدئید در غلظت ۱ و ۵ میلی‌مولار گاما آمینوبوتیریک اسید مشاهده شد (جدول ۱). حفظ انسجام سلولی در دمای پایین عامل مهمی در مقاومت به سرمازدگی در محصولات باغبانی می‌باشد (۳۷). مالون دی آلدئید محصول ثانویه اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع غشا است که به عنوان شاخص پراکسیداسیون غشا شناخته شده است (۱۴). تنش سرمایی در میوه‌ها سبب تغییر ساختار غشا به وسیله پراکسیداسیون غشا می‌شود،

پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلولی با تجمع MDA موجب ایجاد آسیب سرمازدگی در محصولات باغبانی می‌گردد (۳). کاهش پراکسیداسیون لیپیدهای غشا توسط تیمار GABA در گوجه‌فرنگی (۴) و لیمو (۲۰) تحت تنش شوری، و فلفل سیاه تحت تنش اسمزی گزارش شده است (۲۹).

میزان پرولین: نتایج این تحقیق نشان داد که میزان پرولین در طول دوره انبارمانی در دمای سرمازدگی در میوه‌های تیمار شده با GABA و شاهد افزایش معنی‌داری داشت و بیشترین میزان پرولین در تمامی مراحل نمونه‌برداری در تیمار ۵ میلی‌مولار گاما آمینوبوتیریک اسید بدست آمد (جدول ۱). پرولین یکی از مهمترین اسمولیت‌ها در بسیاری از گیاهان است که در شرایط تنش تولید آن در گیاه افزایش می‌یابد (۳۸). در گیاهان سنتز پرولین از طریق مسیر گلوتامات با اورنیتین و با فعالیت آنزیم‌های پیرولین ۵- کربوکسیلات سنتاز (P5CS) و با اورنیتین آمینو ترانسفراز (OTA) انجام می‌گیرد. میزان تجمع پرولین همچنین به تجزیه شدن به وسیله آنزیم پرولین دهیدروژناز (PDH) بستگی دارد (۱۲). شانگ و همکاران (۲۷) گزارش کردند که تیمار پس از برداشت میوه هلو با گاما آمینوبوتیریک اسید موجب افزایش فعالیت OAT و P5CS و کاهش فعالیت PDH در میوه هلو و افزایش معنی‌داری در میزان پرولین می‌گردد. پرولین از اسیدی شدن بیش از حد سلول جلوگیری می‌کند. در نتیجه GABA با تجمع پرولین نقش مهمی را در حفاظت از ساختمان آنزیم‌ها ایفا می‌کند (۱۶).

فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز: نتایج پژوهش نشان داد که تیمار GABA تاثیر معنی داری در افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز (POD) و سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) در طول دوره انبارمانی داشت (جدول ۱). گیاهان برای کاهش دادن اثرات مخرب گونه‌های فعال اکسیژن، سازوکارهای متفاوتی دارند که از جمله آن‌ها می‌توان به سیستم دفاع آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی اشاره کرد. آنزیم کاتالاز یک آنزیم آنتی اکسیدانی مهم است که برای فعال شدن بسیاری از پاسخ‌های دفاعی در برابر تنش‌ها ضروری است. کاتالاز یک آنزیم آهن‌دار است که در تمام یوکاریوت‌ها یافت می‌شود و همراه با آنزیم‌های دیگر فعالیت حذف رادیکال‌های آزاد را انجام می‌دهد (۱۸). در تنش‌های زنده و غیر زنده، GABA باعث تحریک و فعال شدن سیستم آنتی‌اکسیدانی می‌گردد و از این طریق رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن پاکسازی شده و در نهایت گیاه و بافت را در برابر تنش اکسیداتیو حفظ می‌کند، تیمار GABA فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی را تحت تاثیر قرار می‌دهد که ثبات غشاء سلولی را در برابر اثرات زیان‌آور گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، مثل رادیکال‌های سوپراکسید، هیدروژن پراکسید H_2O_2، رادیکال‌های هیدروکسیل و اکسیژن حفاظت می‌کند (۲۳). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند گایاکول پراکسیداز در واکنش بافت‌های گیاهی نسبت به پیری و تنش نقش دارند. فعالیت این آنزیم‌ها برای جلوگیری از صدمات وارده از طریق گونه‌های فعال اکسیژن ضروری می‌باشد، آنزیم پراکسیداز همچنین در اکسیداسیون پیش ماده‌های ترکیبات فنلی، ساخت لینگین و حذف رادیکال‌های آزاد نقش دارد (۱). تاثیر تیمار پس از برداشت ۲۰ میلی مولار GABA بر میوه موز باعث افزایش فعالیت پراکسیداز شده و چون این آنزیم در چوبی شدن دیواره سلولی نقش دارد احتمالا با افزایش استحکام دیواره سلولی باعث کاهش میزان سرمازدگی و در نتیجه باعث سفتی و افزایش کیفیت محصول در مدت انبارمانی شده است (۳۵). آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز یکی از اصلی‌ترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در سلول است، که می‌تواند باعث تبدیل رادیکال سوپر اکسید به هیدروژن پراکسید شود و همچنین نقش اصلی حفاظت در مقابل ROSها بر عهده آنزیم SOD می‌باشد (۲۵). این آنزیم اولین سد دفاعی را تشکیل می‌دهد که رادیکال‌های سوپراکسید را به پراکسید هیدروژن تبدیل می‌کند. سپس پراکسید هیدروژن می‌تواند توسط آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سیکل آسکوربات-گلوتاتیون که در کلروپلاست عمل می‌کند یا توسط پراکسیداز در دیواره سلولی و سیتوپلاسم به آب و اکسیژن مولکولی تجزیه گردد (۳۱). در گیاه فلفل، تیمار GABA باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD و POD گردید و سبب افزایش مقاومت گیاه در شرایط تنش شد. SOD و POD همراه با سایر آنزیم‌ها در چرخه آسکوربات گلوتاتیون و از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن باعث کاهش اثرات منفی تنش‌های اکسیداتیو می‌شوند (۳۲).

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این تحقیق می‌توان بیان کرد که گاما آمینوبوتیریک اسید می‌تواند به عنوان یک راهکار پس از برداشتی برای کاهش آسیب سرمازدگی در میوه گوجه‌فرنگی مورد استفاده قرار گیرد. تاثیر GABA در کاهش آسیب سرمازدگی در میوه گوجه‌فرنگی می‌تواند به افزایش انسجام غشای سلولی در اثر افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش نشت یونی و مالون دی آلدئید مربوط باشد. افزایش میزان پرولین در میوه‌های تیمار شده نیز می‌تواند دلیلی بر افزایش مقاومت به سرمازدگی در میوه‌ها باشد. نتایج این پژوهش نشان داد که نقش انسجام غشای سلولی در مقاومت به سرمازدگی از متابولیسم فنیل پروپانوئید، فعالیت آنزیم PAL و افزایش فنل کل در میوه‌های گوجه‌فرنگی تیمار شده با گاما آمینوبوتیریک اسید می‌باشد.

منابع

1- Ali A., Maqbool M.G., Alderson P., and Zahid N. 2013. Effect of gum arabic as an edible coating on antioxidant capacity of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit during storage. Postharvest Biology and Technology 76: 119–124.

2- Arena E., Fallico A. and Maccarone E. 2001. Evalution of antioxidant capacity of blood orange juice as influenced by constituents concentrate. Food Chemistry 74: 423-427.

3- Asghari M.R. and Aghdam M.S. 2010. Impact of salicylic acid on post-harvest physiology of horticultural crops. Trends Food Science Technology 21: 502-509.

4- Bolarin M.C., Santa-Cruz A., Cayuela E., and Perez-Alfocea F. 1995. Short-term solute changes in leaves and roots of cultivated and wild tomato seedlings under salinity. Journal of Plant Physiology 147: 463–468.

5- Cantwell M.I., and Kasmire R.F. 2002. Postharvest Handling Systems: Fruit Vegetables, In: Kader, A. A. (Ed.), Postharvest Technology of Horticultural Crops. University of California, Agriculture and Nature Resources, Davis 407–423.

6- Deewatthanawong R., Rowell P. and Watkins C.B. 2010. γ -Aminobutyric acid (GABA) metabolism in CO_2 treated tomatoes. Postharvest Biology and Technology 57: 97-105.

7- Dehghan G., and Khoshkam Z. 2012. Tin (11)-quercetin complex: Synthesis, spectral characterization and antioxidant activity. Food Chemistry 131: 422-426.

8- Dhindsa R.S., and Thrope T.A. 1981. Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. Journal of Experimental Botany 32: 93-101.

9- Ding C.K., Wang C.Y., Gross K.C., and Smith D.L. 2002. Jasmonate and salicylate induce the expression of pathogenesis-related-protein genes and increase resistance to chilling injury in tomato fruit. Planta 214: 895–901.

10- Dixon R.A., and Paiva N. 1995. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. The Plant Cell 7(7): 1085–1097.

11- Du G., Li M., Ma F., and Liang D. 2009. Antioxidant capacity and the relationship with polyphenol and Vitamin C in *Actinidia* fruits. Food Chemistry 113: 557-562.

12- Fabro G., Kovacs I., Pavet V., Szabados L., and Alvarez M.E. 2004. Proline accumulation and AtP5CS2 gene activation are induced by plant pathogen incompatible interactions in Arabidopsis. Mol. Plant–Microbe Interact 17: 343–350.

13- Galvez A.B, Garcia M.V., Corrales J.C., Lopez A.C., and Valenzuela J.A.L. 2010. Effect of gradual cooling storage on chilling injury and phenylalanine ammonia-lyase activity in tomato fruit. Journal Food Biochemistry 34: 295–307.

14- Heath R., and Packer L. 1968. Photo peroxidation in isolated chloroplasts, Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biology Physiology 125: 189-198.

15- Hsu Y.M., Lai C.H., Chang C.Y., Fan C.T., and Chen C. T. 2008. Characterizing the lipid lowering effects and antioxidant mechanisms of tomato paste. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry 72: 677-685.

16- Hu X., Xu Z., Xu W., Li J., Zhao N., and Zhou, Y. 2015. Application of γ-aminobutyric acid demonstrates a protective role of polyamine and GABA metabolism in muskmelon seedlings under $Ca(NO_3)_2$ stress. Plant Physiology and Biochemistry 92: 1-10.

17- Jalilimarandi R. 2004. Postharvest Physiology (Handling and storage of fruits, vegetables and ornamental plants). Publishers Jihad Urmia University. Second edition, p. 276. [In Farsi]

18- Jiang Y., and Huang B. 2001. Drought and heat stress injury to two cool-season turf grasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation. Crop Science 41(2): 436-442.

19- Kaijv M., Sheng L., and Chao C. 2006. Antioxidation of flavonoids of Green Rhizome. Food Science and Technology 27: 110–115.

20- Kathiresan A., Miranda J., Chinnappa C., and Reid DM. 1998. Γ-Aminobutyric acid promotes growth elongation in *Stellaria longipes*: the role of ethylene. Plant Growth Regulation 26: 131-137.

21- Lafuente M.T., Zacarias L., Martinez-Tellez M.A., Sanchez-Ballesta, M.T., and Granell A. 2003. Phenylalanine ammonia-lyase and ethylene in relation to chilling injury as affected by fruit age in citrus. Postharvest Biology and Technology 29(3): 309–318.

22- Lu X., Sun D., Li Y., Shi W., and Sun G. 2011. Pre- and post- harvest salicylic acid treatments alleviate internal browning and maintain quality of winter pineapple fruit. Scientia Horticulturae 130: 97–101.

23- Mittler R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends Plant Science 7: 405–410.

24- Nayyar H., Kaur R., Kaur S., and Singh R. 2014. γ - Aminobutyric acid (GABA) imparts partial protection from heat stress injury to rice seedlings by improving leaf turgor and upregulating osmoprotectans and antioxidants. Journal Plant Growth Regulation 33(2): 408-419.

25- Pan Y., Wu L., and Yu Z. 2006. Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activities and SOD isoenzymes of liquorice. *Glycyrriza uralensis* Fisch. Plant Growth Regulation 301: 564-571.

26- Paull R.E. 1990. Chilling injury of crops of tropical and subtropical origin, In: Wang, C. Y. (Ed.), Chilling injury

of horticultural crops. CRC Press, Boca Raton FL, pp. 17–36.
27- Shang H., Cao S., Yang Z., Cai Y., and Zheng Y. 2011. Effect of exogenous gamma aminobutyric acid treatment on proline accumulation and chilling injury in peach fruit after long-term cold storage. Journal of agricultural and food chemistry 59(4): 1264–1268.
28- Shelp B., Bown A., and McLean M. 1999. Metabolism and functions of gamma-aminobutyric acid. Elsevier. Trends in plant science, 446-452.
29- Shi S.Q., Shi Z., Jiang Z.P., Qi L.W., Sun X.M., Li C. X. et al. 2010. Effects of exogenous GABA on gene expression of *Caragana intermedia* roots under NaCl stress: Regulatory roles for H2O2 and ethylene production. Plant, Cell and Environment 33: 149-162.
30- Aghdam M.S., Razavi F., and Karamneghad F. 2015. Maintaining the postharvest nutritional quality of peach fruits by γ-Aminobutyric acid. Journal of Plant Physiology 5(4): 1457- 1463.
31- Tejera N.A., Soussi M., and Lluch C. 2006. Physiological and nutritional indicators of tolerance to salinity in chickpea plants growing under symbiotic conditions. Environmental and Experimental Botany 58: 17-24.
32- Vijayakumari K., and Puthur T. 2015. Y-aminobutyric acid (GABA) priming enhances the osmotic stress tolerance in *Piper nigrom* L plants subjected to PEG induced stress. Plant Growth Regulation, 78: 57-67.
33- Wang C.Y., Fan L.Q., Gao H.B., Wu X.L., Li J.R., Lv G.Y., and Gong B.B. 2014a. Polyamine biosynthesis and degradation are modulated by exogenous gamma-aminobutyric acid in root-zone hypoxia-stressed melon roots. Journal of Plant Physiology and Biochemistry 82: 17-26.
34- Wang Sh.Y., and Gao H. 2013. Effect of chitosan-based edible coating on antioxidants, antioxidant enzyme system, and postharvest fruit quality of strawberries *Fragaria aranassa* Duch. LWT- Food Science and Technology 52: 71-79.
35- Wang Y., Luo Z., and Huang H. 2014b. Effect of exogenous γ-aminobutyric acid (GABA) treatment on chilling injury and antioxidant capacity in banana peel. Scientia Horticulturae 168: 132-137.
36- Wills R.B.H., and Ku V. 2002. Use of 1- MCP to extend the time to ripen of green tomatoes and postharvest life of ripe tomatoes. Postharvest Biology and Technology 26: 85-90.
37- Wonsheree T., Kesta S., and Doorn W.G. 2009. The relationship between chilling injury and membrane damage in lemon basil (*Ocimum citriodourum*) leaves. Postharvest Biology and Technology 51: 91–96.
38- Yadegari L.Z., Heidari R., and Carapetian J. 2007. The influence of cold acclimation on proline, malondialdehyde (MDA), total protein and pigments contents in soybean (*Glycine max*) seedlings. Journal Biology Science 7:1436–1441.
39- Yang A., Cao S., Yang Z., Cai Y., and Zheng Y. 2011. γ-Aminobutyric acid treatment reduces chilling injury and activates the defense response of peach fruit. Food Chemistry 129(4): 1619-1622.
40- Zhao D.Y., Shen L., Fan B., Liu K.L., Yu M., Zheng Y., Ding Y., and Sheng J.P. 2009. Physiological and genetic properties of tomato fruits from 2 cultivars differing in chilling tolerance at cold storage. Food Chemistry 74: 348–352.

Journal of Horticultural Science
Vol. 34, No.2, Summer 2020, P. 221-230
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۴، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹، ص. ۲۳۰-۲۲۱
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

Effects of Gamma-aminobutyric Acid Treatment on Postharvest Chilling Injury on Tomato Fruit

M. Moradi[1] - F. Razavi[2*]-V. Rabiei[3]- M. Soleimani Aghdam[4]- L. Salehi[5]
Received: 02-02-2019
Accepted: 14-09-2019

Introduction: In recent years, γ-aminobutyric acid (GABA), a non-proteinogenic four-carbon signaling amino acid, has been employed as a safe strategy for attenuating chilling injury and fungal decay, delaying senescence and keeping sensory and nutritional quality of fruits and vegetables during postharvest life. In addition to applying GABA as exogenous safe procedure, heightening cellular GABA shunt pathway activity also is pivotal for attenuating chilling injury and fungal decay, delaying senescence and keeping sensory and nutritional quality of fruits and vegetables during postharvest life. Low temperature storage is widely employed for prolonging postharvest life of fruits and vegetables accompanying by keeping sensory and nutritional quality. Tomato is one of the most important horticultural crops, which exhibits higher benefits for human health but being endemic to subtropical climates, they are very vulnerable to chilling injury. Cold storage application is normally employed as a regular low-cost real postharvest technology. Owing to its great socio-economic significance, great efforts have been done by researchers to attenuating chilling injury in tomato fruits during low temperature storage employing safe strategies such as melatonin, brassinosteroids, salicylic acid, nitric oxide, and gibberellic acid. Attenuating chilling injury in tomato fruits by postharvest treatments may attribute to keeping safe membrane integrity representing by lower electrolyte leakage and malondialdehyde (MDA) accumulation occurring by eliciting endogenous polyamines, proline and nitric oxide accumulation by activating CBF1 signaling pathway, hampering phospholipase D (PLD) and lipoxygenase (LOX) enzymes activity, activating reactive oxygen species (ROS) scavenging enzymes activity resulting in higher ascorbic acid and glutathione accumulation, maintaining endogenous GA_3 homeostasis occurring by higher CBF1 signaling pathway concurrent with higher endogenous salicylic acid accumulation, which not only are pivotal for conferring chilling tolerance in tomato fruits but also are crucial for preserving sensory and nutritional quality.

Material and Methods: Tomato fruits (*Solanum lycopersicum* cv. Izmir) were picked at the mature green stage in Zanjan Province, Iran, and transported to the fruit analysis laboratory at Zanjan University. In the laboratory, the fruit was screened for uniform size, maturity, and absence of mechanical damage. Fruits (1440) were divided into four groups, each consisting of 360 fruits. The experiment was done in triplicate in which each replicate consisted of 120 fruits. The exogenous GABA applying was done by immersing of fruits in GABA at 0, 0.1, 1, and 5 mM for 15 min at 20 ˚C. Then, fruits were air dried at room temperature and stored at 4 ± 0.5 ºC (85–90 % RH) for 28 days. After assessment of chilling injury every 7 days during storage at 4 ˚C followed by shelf life at 25 ºC for 3 days, biochemical analyses were performed.

Results and Discussion: In recent experiment, we showed that the exogenous GABA applying, especially at 5 mM, is beneficial for attenuating chilling injury in tomato fruits during storage at 4 ºC for 28 days which was associated with higher membrane integrity representing by lower electrolyte leakage and malondialdehyde (MDA) accumulation. Keeping safe membrane integrity in tomato fruits in response to exogenous GABA applying may ascribe to triggering reactive oxygen species (ROS) scavenging catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and ascorbate peroxidase (APX) enzymes activity giving rise to higher endogenous ascorbic acid accumulation concomitant with promoting phenylpropanoid pathway activity representing by higher phenylalanine ammonia lyase (PAL) enzyme activity giving rise to higher phenols and flavonoids accumulation and superior DPPH scavenging capacity.

1, 2 and 3- M.Sc. Student, Assistant Professor and Associate Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: razavi.farhang@znu.ac.ir)
4- Assistant Professor, Department of Horticulture, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran
5- M.Sc. Graduated, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

Conclusion: Therefore, exogenous application of GABA not only is proficient for attenuating chilling injury but also is beneficial for preserving nutritional quality of tomato fruits during storage at 4 ºC for 28 days.

Keywords: Antioxidant system, Chilling injury, DPPH scavenging capacity, Membrane integrity, Tomato